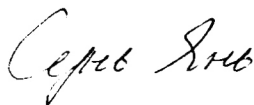


Сунь Янь

**БИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ РОДА *GENTIANA* L.  
(ПРИМОРСКИЙ КРАЙ)**

03.00.16 - экология

03.00.05 - ботаника



**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Владивосток – 2008

Работа выполнена на кафедре общей экологии  
Дальневосточного государственного университета

**Научные руководители:**

доктор биологических наук, профессор,  
заслуженный деятель науки РФ  
**Христофорова Надежда Константиновна;**

кандидат биологических наук, доцент  
**Царенко Наталья Альбертовна**

**Официальные оппоненты:**

доктор биологических наук,  
старший научный сотрудник  
**Хранко Ольга Викторовна**

доктор биологических наук,  
старший научный сотрудник  
**Селедец Виталий Павлович**

**Ведущая организация:**

Биолого-почвенный институт ДВО РАН,  
г. Владивосток

Защита состоится 20 декабря 2008 г. в 15 часов на заседании диссертационного совета  
Д 212.056.02 при Дальневосточном государственном университете по адресу: 690950, г. Вла-  
дивосток, ул. Октябрьская, 27, ауд. 435.

Отзывы на автореферат просим направлять по адресу: 690950, г. Владивосток, ул. Ок-  
тябрьская, 27, ауд. 417, кафедра общей экологии.

Факс: (4232) 45-94-09

E-mail: [marineecology@mail.ru](mailto:marineecology@mail.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Дальневосточного госу-  
дарственного университета.

Автореферат разослан « 19 » ноября 2008 г.

НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА КГУ



0000439064

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат биологических наук

Ю.А. Галышева

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы

В настоящее время на земном шаре в качестве лекарственных растений используются около 21 тыс. видов. Наиболее обширная группа лекарственных растений применяется в китайской народной медицине – не менее 2000 видов (Яковлев, Блинова, 2004). Однако из-за активного сбора природного сырья в последние годы наблюдается снижение численности ценопопуляций или почти полное уничтожение некоторых видов лекарственных растений. Кроме того, дикорастущие растения подвергаются воздействию различных неблагоприятных факторов, что ставит на повестку дня задачу введения их в культуру для повышения производительности и качества сырья (Чэнь Синфу и др., 2000).

Особые климатические условия, характер почв Дальнего Востока способствуют произрастанию здесь многих лекарственных растений. Во флоре российского Дальнего Востока насчитывается 4113 видов растений (Кожевников, Пробатова, 2002), однако в официальной медицине используется лишь 1,5%. В Приморском крае для медицинского использования разрешено Минздравом России всего 77 видов растений (Степанова, 1997).

По количеству видов, используемых во всех разделах медицины, выделяется семейство *Gentianaceae* Juss. Особый интерес представляют виды рода *Gentiana* L., используемые в официальной и восточной медицинах в качестве основных источников гликозида генциопикрина. В медицине используются корневища горечавок.

Однако в последние годы из-за интенсивного освоения лесных угодий, распашки лугов, увеличения площадей под пастбища и сенокосы и т. д. наблюдается сокращение численности популяций горечавок. Наиболее широко используемые виды *G. scabra* и *G. triflora*, включенные в «Красную книгу» Китая (Чжан Эньди, Чжэн Ханьчэнь, 2002), в России до сих пор ещё не охраняются.

Специальные исследования горечавковых Дальнего Востока начаты сравнительно недавно, и поэтому литературные сведения о большинстве видов являются разрозненными и неполными.

### Цель и задачи исследования:

Цель работы – изучить особенности биологии и экологии видов рода *Gentiana* L., произрастающих в Приморском крае, и оценить целесообразность введения их в культуру.

В соответствии с поставленной целью предстояло решить следующие задачи:

1. Проанализировать состояние изученности биологических и химических особенностей видов рода *Gentiana*, выделив обитателей Приморского края.

2. Изучить микроструктуру поверхности семян для идентификации видов и уточнения систематических особенностей.

3. Изучить биологию семян и условия их прорастания для ряда видов горечавок.

4. Изучить биологию цветения и опыления горечавок и выявить основных опылителей.

5. Уточнить число хромосом у наиболее массовых видов для возможного проведения гибридизации.

6. Изучить морфологические и биологические особенности подземных частей горечавок.

7. Изучить динамику накопления биологически активных и запасных веществ в различных органах растений.

### **Научная новизна**

Изучение условий прорастания семян горечавок показало, что среди них главными являются тепло ( $+25^{\circ}\text{C}$ ), свет и обработка раствором гиббереллина (100-150 мкг/мл).

Выявлено, что при прорастании семян горечавок у проростка на границе гипокотили и корешка образуется кольцообразное утолщение с сосущими волосками, такое же, как у водных растений, что может свидетельствовать о близости происхождения горечавок и водных растений. Это предположение усиливается наблюдением за развитием проростков горечавок, нуждающихся в избыточном количестве влаги.

Герметизация и хранение на холоду семян горечавок удлиняют срок их всхожести с одного (в обычных условиях) до семи лет.

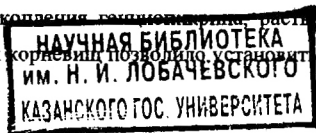
Детальное изучение биологии цветения и опыления ряда видов горечавок, произрастающих в Приморском крае, позволило выявить, что главный способ опыления цветков – энтомофилия, при этом основными насекомыми-опылителями являются шмели. Установлен дополнительный тип опыления – автогамия, реализация которого проявляется в экстремальных погодных условиях и при малой активности опылителей.

Анатомическое изучение корневищ показало, что 2/3 их объема занято паренхимой флоэмы, что позволяет рассматривать ее как основное депо запасных веществ.

### **Практическое значение работы**

Сравнение биологических особенностей растений горечавок в природе и культуре показало целесообразность их культивирования: отсутствие конкуренции с другими видами и необходимости добывать влагу из глубоких слоев почвы способствуют формированию коротких, массивных, хорошо разветвленных, легко регенерируемых, не глубоко расположенных корневищ.

Изучение динамики накопления биологически активных веществ и запасных сахаров в подземных частях растений и нарастания корневищ позволило установить оптимальные сроки сбора ле-





карственного сырья: у *Gentiana scabra* сборы подземных частей растений необходимо проводить весной – в начале лета (когда рост надземной части только начинается) и в октябре, у *G. triflora* – в конце второй декады июня и в конце второй декады октября.

Горечавки, произрастающие в Приморском крае, отличаются высоким содержанием генциопикрина в подземных частях (выше 5%), что повышает их фармакологические свойства как лекарственного сырья по сравнению с видами, произрастающими в Китае.

Результаты исследования могут быть использованы для разработки рекомендаций по организации контроля, охраны и рационального использования видов рода *Gentiana*.

### **Защищаемые положения**

1. Сходство начальных этапов онтогенеза горечавок с таковыми у водных растений, а именно, наличие «кольца» и всасывающих гипокотильных волосков позволяет полагать, что горечавки в начале своей истории имели водных предков.

2. По трем важнейшим показателям: содержанию генциопикрина в растениях, коэффициенту усушки и количеству растворимого сахара определены оптимальные сроки сбора лекарственного сырья на юге Приморского края у двух массовых видов горечавок – *Gentiana scabra* и *Gentiana triflora*, относящиеся к началу-середине октября. В связи с созданием оптимальных условий при выращивании горечавок в культуре, получением массивных, неглубоко расположенных, способных к регенерации корневищ, более целесообразно получать лекарственное сырье не из диких, а из культивируемых растений.

### **Апробация работы**

Материалы диссертации были представлены на Научно-практической конференции «Биоморфологические исследования в современной ботанике» БСИ ДВО РАН (Владивосток, 18-21 сентября 2007 г.), на семинаре «Структурная организация растений», г. Владивосток, 6-9 октября 2008 г. БИС ДВО РАН», на семинарах кафедры общей экологии, а также ботаники и экологии растений ДВГУ.

### **Публикации**

По теме диссертаций опубликовано 6 печатных работ.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация состоит из введения, 6 глав, выводов, списка литературы, включающего 145 источников, в том числе 56 русскоязычных, 28 англоязычных и 61 китайский, и 6 приложений. Работа изложена на 125 страницах, иллюстрирована 32 рисунками и 14 таблицами.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Глава 1. Состояние изученности видов рода *Gentiana* L. (обзор литературы)

В главе рассматривается состояние изученности видов рода *Gentiana*, в частности, их биология, экология, химический состав, использование в медицине, культивирование. В Приморском крае из 8 видов горечавок наиболее распространенными являются *Gentiana scabra* и *G. triflora*. При анализе литературы этим видам уделено наибольшее внимание.

### Глава 2. Объекты, методы исследования и условия произрастания горечавок в Приморье

Материалом для работы послужили 8 видов горечавок, произрастающих в Приморском крае: *Gentiana scabra* Bunge, *G. triflora* Pall., *G. algida* Pall., *G. glauca* Pall., *G. macrophylla* Pall., *G. jamesii* Hemsl., *G. squarrosa* Ledeb. и *G. zollingeri* Fawc. (Харкевич, 1995). Для опытных исследований растения *G. scabra*, *G. triflora* и *G. macrophylla* пересаживали из дикой природы на территорию Ботанического сада-института (БСИ) ДВО РАН.

Наблюдения за развитием подземных и надземных органов горечавок, за изменением содержания в них биологически активных веществ и сахаров, за прорастанием семян и влияющими на него экологическими факторами проводили на экспериментальном участке БСИ и в окрестностях г. Владивостока.

**Хранение и изучение биологии семян.** С 2001 г. каждую осень собирали семена различных видов горечавок, высушивали их, помещали в пластиковые пакеты и герметизировали. Одну часть семян хранили в холодильнике при температуре:  $-10 \sim -15^{\circ}\text{C}$ , другую – при температуре  $0 \sim 5^{\circ}\text{C}$ . Весной 2008 г. провели опыты по прорастанию семян.

В чашки Петри диаметром 90 мм, помещали два слоя фильтровальной бумаги, смоченной водой объемом 10 мл, и укладывали по 50 зрелых семян в каждую чашку. Затем переносили чашки в термокамеры с температурой 0, 5, 15, 25,  $35^{\circ}\text{C}$ . Сохраняя влажность в чашках Петри, ежедневно наблюдали за прорастанием семян. Повторность опытов - трехкратная. Появление зародышевого корня длиной 1 мм рассматривали как признак прорастания семян. Всхожесть за десять дней рассматривали как тенденцию к прорастанию; всхожесть за пятнадцать дней – как прорастание семян.

$$\text{Тенденция прорастания (\%)} = \frac{\text{Число проросших семян в указанный день}}{\text{Сумма опытных семян}} \times 100\%$$

$$\text{Всхожесть (\%)} = \frac{\text{Сумма проросших семян}}{\text{Сумма опытных семян}} \times 100\%$$

Подвергали семена двум обработкам: светом и темнотой, внося по 50 зрелых семян в каждую чашку. Затем чашки Петри помещали в термокамеру с температурой  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Поддерживая влажность в чашках, ежедневно наблюдали за прорастанием семян. Повторность - трехкратная.

В ходе прорастания семян описывали процесс развития от семени до проростка и регулярно собирали материал для анатомического изучения подземной части растений.

**Действие гиббереллина на прорастание семян.** Гиббереллин брали в концентрации 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 мкг/мл. Семена замачивали на 24 ч, затем промывали их в воде 3-5 раз. В чашки Петри помещали два слоя фильтровальной бумаги, смачивали водой объемом 10 мл и укладывали по 50 зрелых семян в каждую чашку. Затем помещали чашки в термокамеру с температурой  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Поддерживая влажность в чашках, также ежедневно наблюдали за прорастанием семян, отмечая появление зародышевого корня длиной 1 мм, количество всходов за пять и за 10 дней. Повторность – трехкратная.

Морфологическое изучение пыльцевых зерен и семян, а также анатомическое изучение подземных органов горечавок проводили по общепринятым методикам (Erdtman, 1969; Ли Чжели, 1987; Паушева, 1988).

**Дифференциация цветочной почки.** Материал для исследования собирали в мае-июле 2007 г. Каждые три дня, с 9 до 10 ч утра методом случайной выборки брали по 10 верхушечных цветочных почек, фиксировали их смесью спирта, уксусной кислоты и формалина (50-70% спирт – ледяная кислота – формалин: 90:5:5). Препараты готовили по общепринятой методике (Паушева, 1988). Постоянные препараты заливали в глицерин – желатину. Срезы делали на микротоме YD-202 (Китай). Толщина среза 10-12 мкм.

**Изучение цветения, опыления и плодоношения растений.** Материалом для работы послужили растения *G. scabra* и *G. triflora*, произрастающие на приморских лугах в окрестностях г. Владивостока (бухта Лазурная) и из коллекции БСИ ДВО РАН. Для изучения отбирали по 10 растений в каждом из мест наблюдения. Фенологические наблюдения проводили в 2006-2007 гг.

В процессе наблюдения за растениями отмечали даты наступления и окончания основных фенологических фаз (бутионизация, цветение, плодоношение), изучали строение цветка, особенности его цветения.

Для выявления опылителей в период цветения, согласно методу Арроя с соавторами (Arroyo et al., 1985), проводили постоянное наблюдение за тремя растениями на каждом участке с 8:00 ч до 19:00 ч, обращая внимание на особенности поведения насекомых. Опылителей фиксировали и затем передавали в научный музей ДВГУ (г. Владивосток) для определения видового состава.

Для выявления возможных типов опыления у *G. scabra* в период цветения проводили следующие варианты эксперимента: а) кастрация цветков без изоляции; б) кастрация с изоляцией; в) изоляция бутонов до раскрытия венчика; г) искусственное самоопыление с изоляцией; д) искусственное опыление между разными растениями (Dafni, 1992; Ван Чжунли и др., 1997).

В момент раскрытия цветков с них собирали пыльцу для определения ее жизнеспособности. Качество пыльцы исследовали с применением метода посева пыльцы на искусственные среды (Голубинский, 1974; Hu Shi-yi, 1993). Для прорастивания, согласно рекомендации Ху Шии (1993), использовали 0,5% раствор агар-агара и 10% раствор сахарозы (Hu Shi-yi, 1993).

Восприимчивость рыльца выявляли методом искусственного нанесения пыльцы на рыльце пестика с интервалом от 1 до 12 дней после кастрации цветков. Опыленные цветки изолировали бумажными пакетами. Через 30 дней проводили наблюдения за процессом образования плодов. Плодопродуктивность выражали процентом завязавшихся плодов от общего числа цветков, взятых для испытания. Завязавшиеся семена оценивали визуально и определяли долю выполненных семян по отношению к общему числу (щуплые семена не учитывали).

Способы и типы опыления выделяли согласно классификации, предложенной Р.Е. Левиной (1981).

**Гибридизация.** Эксперименты по гибридизации выполняли в 2007 г. в коллекции БСИ ДВО РАН. Проводили кастрацию цветков у ряда видов горечавок до цветения, изоляцию цветков, после раскрытия рыльца пестика проводили опыление. Осенью собирали плоды, после высушивания их взвешивали, оценивая процент полных семян (семена считаются полными, если у них виден эндосперм).

**Определение числа хромосом.** Для приготовления препаратов *G. sacabra* и *G. triflora* использовали их корешки на корневнице, для препаратов *G. zollingeri* и *G. macrophylla* использовали корешки проростков, выращенных из семян в чашках Петри.

Кончики корешков предварительно обрабатывали насыщенным раствором парадихлорбензола в течение 4-6 ч, после этого фиксировали их в течение более 2 ч смесью спирта и уксусной кислоты (96% спирт – ледяная кислота, 3:1), с последующей промывкой и хранением в 70% спирте, окрашивали Карбол-Фуксином и готовили давленные препараты стандартным способом (Ли Чжели, 1897).

Хромосомные числа определены на 10-15 метафазных пластинках. Гербарные экземпляры исследованных видов хранятся в гербарии ДВГУ.

Определение содержания растворимого сахара проводили по методу, изложенному в «Экспериментальном справочнике физиологии» (Чжан Чжэнцин, 1985; Сюе Инлун, 1999). Для определения содержания генциопикрина использована высокоэффективная жидкостная хроматографии (ВЭЖХ).

Фотографии на сканирующем электронном микроскопе сделаны при помощи аппарата HITACHI S-520, другие выполнены фотоаппаратами Leica DM LB2.

Статическая обработка данных проведена методом вариационной статистики с использованием стандартных процедур (Лакин, 1990) и программного обеспечения EXCEL 2003.

### Глава 3. Биология семян

**Микроструктура поверхности семян.** У изученных 8 видов рода *Gentiana* выделено два типа семян: крылатые (*G. scabra*, *G. triflora*, *G. algida*, *G. glauca*) (рис. 1: 1-2), и бескрылые (*G. macrophylla*, *G. squarrosa*, *G. jamesii*, *G. zollingeri*) (рис. 1: 3-4). Для всех видов горечавок характерна сетчатая скульптура поверхности семян, но размеры ячеек, их глубина и форма различны. Признаки микроструктуры поверхности семенной кожуры можно использовать как дополнительные при выделении межвидовых различий. Используя подход И. Корнера (Corney, 1976), можно считать, что в типе с крылатыми семенами эволюционно продвинутым является вид *Gentiana scabra*, в типе с бескрылыми – *G. squarrosa*.

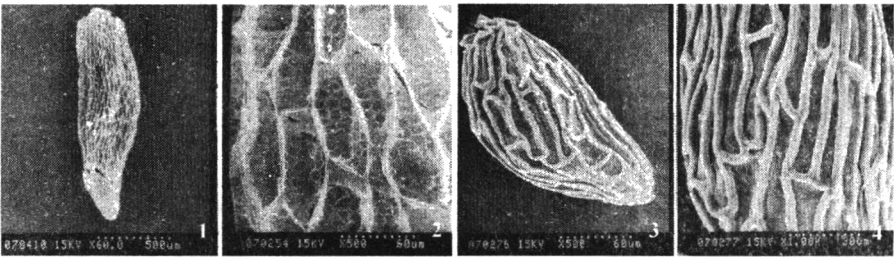


Рис. 1. Морфология поверхности семян горечавок  
1-2: *Gentiana triflora*; 3-4: *G. zollingeri*

**Эмбриогенез.** В зрелом семени зародыш не полностью дифференцирован на осевую часть и семядоли. Семядоли имеют вид бугорков – зародыш сердцевидный, либо семядоли составляют 30-40% от длины зародыша – зародыш торпедовидный. В связи с указанными особенностями прорастание семян затруднено, и семена прорастают не дружно.

**Покой семян и влияние экологических факторов на их прорастание.** Строение зародыша свидетельствует о том, что для семян характерен покой морфологического типа, обусловленный недоразвитостью зародыша.

Использование гиббереллина для предпосевной обработки семян в концентрации 100-200 мкг/мл в течение 12-24 ч сокращает период покоя и увеличивает процент их всхожести. Температура (+25<sup>0</sup>С) и свет также положительно влияют на прорастание семян (табл. 1).

Таблица 1

Влияние температуры на всхожесть семян *G. scabra*

	Температура, °С					
	5	15	20	25	30	35
Тенденция прорастания, (%)	0	14,6	19,3	24,3	17,7	3,3
Всхожесть, (%)	6,6	35,7	46,6	52,7	36,3	29,3

Герметизация и хранение семян в условиях низкой температуры (-10~-15<sup>0</sup>С) обеспечивают длительное (до 7 лет) сохранение их всхожести.

**Особенности прорастания семян.** После предварительной обработки гиббереллином семена горечавок прорастают на 4-5-й день (рис. 2). На 7-8-й день растения имеют развернутые зелёные семядоли и тонкий вытянутый гипокотиль до 4 мм высотой. После того как гипокотиль выходит за пределы семенной оболочки, на границе гипокотилиа и корешка появляется утолщение в виде кольца, несущее сосущие волоски. Подобное образование характерно для водных растений. На 15-20 день развиваются первые настоящие супротивные листья. Однолетнее растение имеет побег розеточного типа, несущий 4-6 пар листьев и корневую систему стержневого типа.

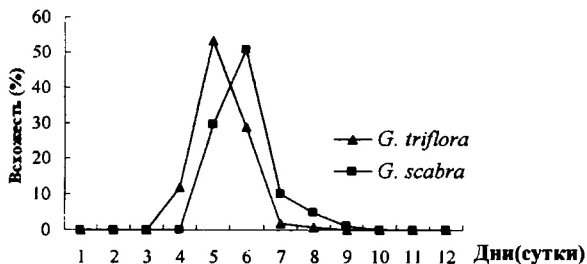


Рис. 2. Всхожесть семян *G. scabra* и *G. triflora* при обработке гиббереллином (концентрация 150 мкг/мл)

#### Глава 4. Биология цветения и опыления

**Микроструктура поверхности пыльцы.** Морфометрические характеристики и микроструктура поверхности пыльцевых зерен у представителей рода *Gentiana* видоспецифична, поэтому комплекс признаков пыльцевых зерен можно использовать для уточнения таксономической принадлежности (табл. 2).

Морфометрическая характеристика пыльцевых зерен видов *Gentiana* (мкм)

Вид	Полярная ось (Р)		Экваториальный диаметр (Е)		Р/Е	Форма пыльцевого зерна	Скульптура
	$x \pm Sx$	min.-max.	$x \pm Sx$	min.-max.			
<i>G. scabra</i>	42,5	34,5-49,5	20,5	15,0-25,5	2,07	длинно-эллипсоидальная	струйчато-ямчатая
<i>G. triflora</i>	39,8	31,0-43,5	19,6	15,5-24,0	2,03	длинно-эллипсоидальная	струйчато-ямчатая
<i>G. zollingeri</i>	28,9	24,5-33,0	15,4	13,0-19,5	1,87	длинно-эллипсоидальная	струйчато-ямчатая
<i>G. macrophylla</i>	28,8	21,5-33,5	16,8	13,5-18,0	1,71	эллипсоидальная	ямчатая
<i>G. jamesii</i>	31,1	23,5-39,0	18,5	16,0-21,5	1,68	эллипсоидальная	струйчатая
<i>G. algida</i>	31,2	22,5-40,0	19,6	18,0-23,5	1,64	длинно-эллипсоидальная	равномерно струйчато-ямчатая
<i>G. squarrosa</i>	24,5	18,5-28,0	17,2	14,5-20,0	1,42	Эллипсоидальная	струйчатая с редкими ямками
<i>G. glauca</i>	33,6	28,5-40,0	24,3	18,5-26,5	1,38	Эллипсоидальная	струйчато-ямчатая

#### Фенология и динамика развития цветка

**Процесс дифференциации цветочной почки.** При появлении 8-9 пар супротивных листьев у *G. scabra* начинается дифференциация цветочной почки, которая на юге Приморского края продолжается около 50 дней – с середины мая и по первую декаду июля. В процессе органогенеза выделены 5 этапов: начальный – характеризуется широкой плоской формой конуса нарастания; второй – заложение зачатков чашелистиков; третий – дифференциация зачатков лепестков; четвертый – дифференциация зачатков тычинок; пятый – дифференциация зачатка пестика.

Мы считаем, что длительная дифференциация цветочной почки связана с экологическими условиями Южного Приморья: избыточно увлажненным климатом. Весной, когда растения начинают вегетировать, температура в дневное время невысокая, разница дневных и ночных температур небольшая, что и влияет на скорость развития цветочной почки. Для сравнения: дифференциация цветочной почки у *G. manshurica* Kitagawa (близкого к *G. scabra* вида), произрастающей в окрестностях г. Харбина, продолжается 30 дней.

**Фенология и динамика раскрытия цветка.** Растения горечавок начинают цвести и плодоносить на втором-третьем году жизни. В естественных популяциях многолетние растения *G. scabra* формируют один стебель с 2-12 цветками. Основные этапы фенологического развития двух видов горечавок представлены в табл. 3.

Фенологические периоды у *G. scabra* и *G. triflora*

Виды	Начало вегетации	Бутонизация	Начало цветения	Массовое цветение	Конец цветения	Плодоношение
<i>G. scabra</i>	28.4-05.5	15.7-28.7	09.9-20.9	17.9-02.10	05.10-14.10	08.10-27.10
<i>G. triflora</i>	15.4-20.4	06.7-19.7	30.8-06.9	05.9-18.9	20.9-01.10	28.9-15.10

У представителей рода периоды цветения и плодоношения одной особи составляют около 25-30 дней. Сроки цветения *G. scabra* и *G. triflora* в первой и второй декадах сентября совпадают (рис. 3). В случае неблагоприятных условий цветки временно закрываются, что является экологической адаптацией к факторам среды.

Рис. 3. Цветки *G. scabra*

*а* – 5 пыльников прижаты к рыльцу, *б* – 5 пыльников частично отогнуты от рыльца,  
*в* – 5 пыльников полностью отогнуты от рыльца

**Биология опыления.** Для горечавок характерны цветки энтомофильной организации, основными переносчиками пыльцы являются шмели. Всего выявлено 13 видов возможных агентов переноса пыльцы. Основным типом опыления цветков горечавок является ксеногамия (т.е. перекрестное опыление), которая совмещается с гейтоногамией, так как цветки в соцветии разновозрастные, соцветие длительно цветущее. Хотя энтомофилия – основной способ опыления, в экстремальных погодных условиях и при малой активности опылителей может реализоваться дополнительный тип опыления – автогамия. От цветения до созревания плода проходит приблизительно месяц. Плод – коробочка.

## Глава 5. Гибридизация

**Число хромосом горечавок.** Для успешного проведения скрещивания и получения высокопродуктивных сортов лекарственных растений важно знать их число хромосом. В то же время в литературе указываются различные числа хромосом для некоторых видов. Так, для *Gentiana macrophylla* приводятся следующие числа хромосом:  $2n=24$  (Красноборов, Ростовцева, 1975; Беляева, Сипливинский, 1975),  $2n=26$  (Пробатова, Соколовская, 1995) и даже



$2n=42$  (Болховских, 1969). В нашей работе подтверждено число хромосом у *G. macrophylla* ( $2n=26$ ), *Gentiana scabra* ( $2n=26$ ), *Gentiana zollingeri* ( $2n=20$ ) и определено у *Gentiana triflora* ( $2n=26$ ).

**Гибридизация *G. triflora* и *G. scabra*.** Результативной оказалась гибридизация между *G. triflora* (♀) и *G. scabra* (♂), что можно использовать для получения высокопродуктивных сортов (табл. 4).

Таблица 4

Доля выполненных семян и вес плодов, полученных после гибридизации

Сочетания	Доля выполненных семян в плоде, %	Коэффициент Стьюдента, t	Вес плода, г	Коэффициент Стьюдента, t
<i>G. triflora</i> (♀) x <i>G. scabra</i> (♂)	96,3±0,59	11,15*	0,087±0,004	15,25*
<i>G. scabra</i> (♀) x <i>G. triflora</i> (♂)	35,2±5,45		0,018±0,001	

Примечание: \* разница достоверна на 95 % уровне при  $\geq 2,1$  ( $n=19$ )

## Глава 6. Подземные органы: особенности строения, способность к регенерации и накоплению сахаров и генциопикрина

**Строение корневища и его способность к регенерации.** На втором году развития растений горечавок стержневая корневая система заменяется разветвленным корневищем с придаточными корнями. При выращивании горечавок в культуре увеличивается количество боковых ответвлений на корневище и их диаметр. В результате культивируемые растения превосходят дикорастущие особи по биомассе подземных частей.

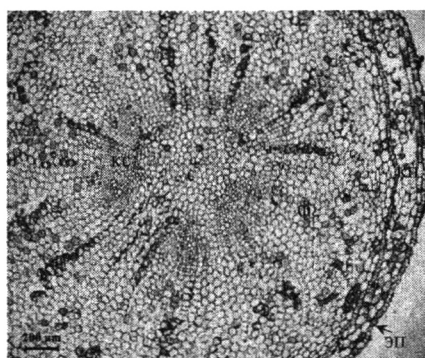


Рис. 4. Поперечный срез бокового ответвления *G. scabra*

э – эпидерма; кп – коровая паренхима; фл – флоэма; кс – ксилема; с – сердцевина

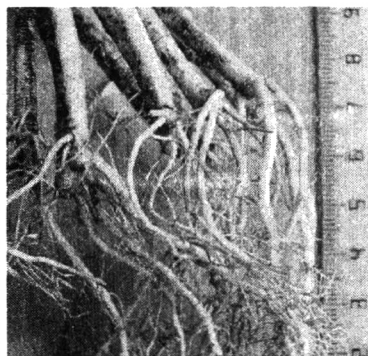


Рис. 5. Регенерация корневищ *G. scabra* при корневища искусственном удалении частей

Анатомическое изучение корневища позволило представить его структуру и выявить место запасаения сахаров и биологически активных веществ. Таковым является паренхима флоэмы, занимающая 2/3 радиуса на поперечном срезе (рис. 4).

В ходе исследования установлена высокая регенерирующая способность корневищ горечавок после удаления (обрезания) большей части боковых ответвлений (рис. 5).

### Накопление сахаров и генциопикрина

**Коэффициент усушки.** Важной характеристикой лекарственного сырья является коэффициент усушки, который представляет собой отношение сырого веса к сухому.

Коэффициент усушки различных частей растения зависит от соотношения запасных веществ и механических тканей. Поэтому понятно, что к осени, когда в корневищах количество запасных веществ максимально, коэффициент усушки также наибольший.

Коэффициент усушки подземных органов всегда выше, чем надземных, так как запасные вещества растения накапливаются именно в этих органах (рис. 6).

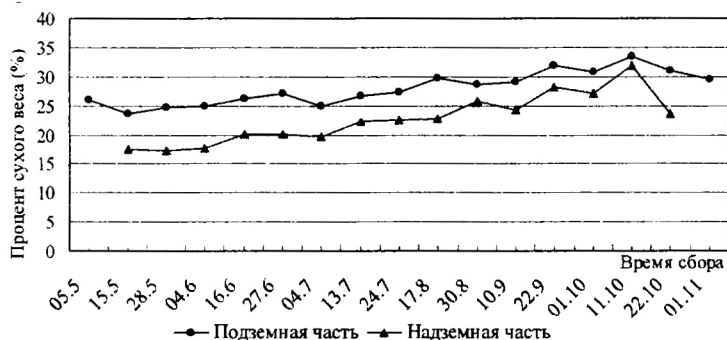


Рис. 6. Изменение коэффициента усушки надземных и подземных частей *G. scabra*

**Динамика содержания генциопикрина.** Генциопикрин относится к вторичным метаболитам, являясь биологически активным веществом. Он является главным стандартом при оценке качества лекарственного сырья (Сун Циншэн, 1986; Фармакопея КНР, 2000). Виды горечавок, произрастающие в Приморском крае, отличаются от таковых в Китае высоким содержанием генциопикрина в подземных частях растений, которое всегда превышает 5%, что значительно выше стандарта, указанного в фармакопее КНР (1%). Это, по-видимому, обусловлено климатическими особенностями юга Приморского края, в частности, влажностью климата. В сезонной динамике генциопикрина (показанной на примере *G. scabra*) выявляются три пика: первый пик появляется в начале июня (8,76%), второй – в конце первой декады сентября (7,59%), третий – в конце октября (7,35%) (рис. 7).

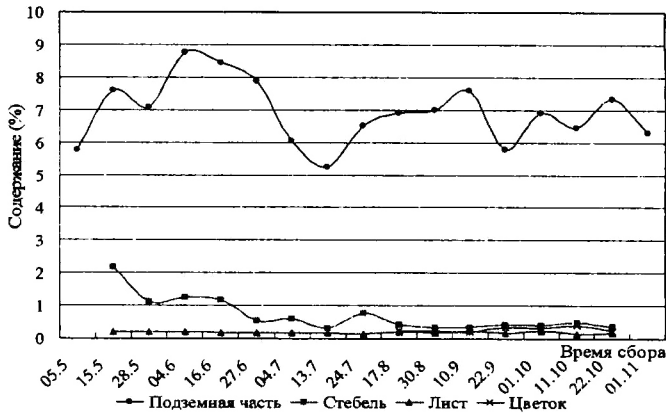


Рис. 7. Среднее содержание гениопикрина в различных органах растений *G. scabra*

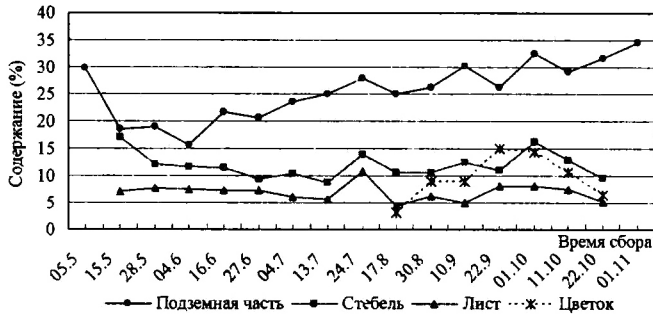


Рис. 8. Динамика накопления растворимого сахара в *G. scabra*

**Динамика накопления растворимого сахара.** Растворимый сахар относится к первичным метаболитам и является запасным веществом подземной части горечавок. Как видно, в начале вегетации (май) содержание растворимого сахара высокое (рис. 8). В начале интенсивного роста растения (июнь) происходит его перекачивание в надземную часть. Однако по мере повышения температуры и развития фотосинтетической деятельности листьев и стеблей количество сахара в них повышается, и часть его вновь перераспределяется. Поэтому уже в начале июня содержание растворимого сахара в подземных органах постепенно увеличивается, достигая максимума (38,14%-41,11%) ко времени увядания растения.

#### Отношение между содержанием растворимого сахара и гениопикрина

Содержание растворимого сахара и гениопикрина в подземных частях растений изменяются в противофазе (рис. 9). В начале вегетации количество сахара в корневищах уменьшается, поскольку он перекачивается в надземную часть растений, обеспечивая рост стебля и

листьев. Осенью в результате накопления в фотосинтезирующих частях сахар вновь перекачивается в корневища как запасный продукт.

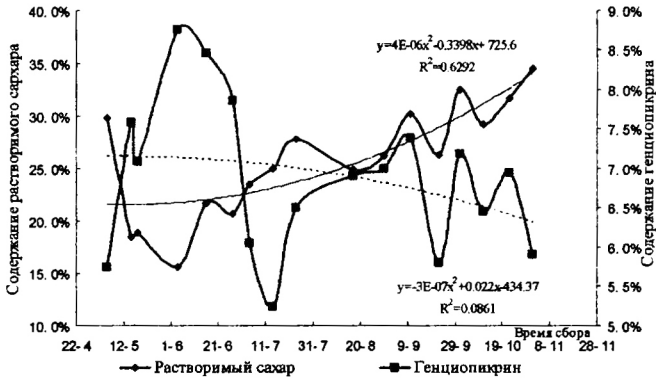


Рис. 9. Отношение содержания растворимого сахара и генциопикрина в подземной части растений *G. scabra*

Согласно нашим исследованиям, можно рекомендовать проводить сборы подземных частей горечавок как лекарственного сырья у *G. scabra* весной – в начале лета (когда рост надземной части только начинается) и в октябре, у *G. triflora* – в конце второй декады июня (очень короткое время) и в конце второй декады октября.

## ВЫВОДЫ

1. Показано, что биология и экология горечавок, произрастающих в Приморском крае, а также использование их в качестве лекарственного сырья изучены недостаточно.
2. Установлено, что скульптура поверхности семян горечавок является очень характерной и может использоваться для идентификации видов. На основании размеров семян и строения скульптуры поверхности семенной кожуры можно говорить об эволюционной продвинутости растений. В типе с крылатыми семенами эволюционно продвинутым является вид *Gentiana scabra*, в типе с бескрылыми – *Gentiana squarrosa*.
3. Выявлено, что морфометрические характеристики и микроструктура поверхности пыльцевых зерен у представителей рода *Gentiana* видоспецифична, поэтому комплекс признаков пыльцевых зерен (форма и размеры, скульптура экзины, длина и ширина борозд, форма концов борозд) можно использовать для уточнения таксономической принадлежности.
4. Отмечено, что при прорастании семян горечавок у проростка на границе гипокотили и корешка образуется утолщение в виде кольца с сосущими волосками, аналогичное таковому у водных растений.

5. На примере *Gentiana scabra* установлено, что сроки дифференциации одной цветочной почки являются продолжительными (50 дней) и обусловлены климатическими особенностями Южного Приморья.

6. Для горечавок характерны цветки энтомофильной организации. Основными насекомыми-опылителями являются шмели. Энтомофилия – основной способ опыления. Дополнительным способом опыления в экстремальных погодных условиях и при малой активности опылителей может быть автогамия.

7. Подтверждено число хромосом у *Gentiana scabra* ( $2n=26$ ), *G. zollingeri* ( $2n=20$ ), *G. macrophylla* ( $2n=26$ ). Впервые определено число хромосом у *Gentiana triflora* ( $2n=26$ ). Результативной оказалась гибридизация между *G. triflora* (♀) и *G. scabra* (♂), что можно использовать для получения высокопродуктивных сортов.

8. Показано, что паренхима флоэмы занимает 2/3 радиуса на поперечном срезе корневища и служит местом запаса сахара и биологически активных веществ.

9. Установлено, что корневища горечавок обладают высокой регенерирующей способностью, что может использоваться для увеличения массы получаемого лекарственного сырья.

10. Выявлено, что продолжительность сохранения всхожести семян горечавок довольно коротка, при комнатной температуре она составляет только один год. При герметичном хранении и низкой температуре ( $-10\sim-15^{\circ}\text{C}$ ) семена сохраняют всхожесть не менее 7 лет.

11. Найдено, что у видов горечавок, произрастающих в Приморском крае, содержание гениопикрина в подземных частях растения всегда превышает 5%, что значительно выше стандарта, указанного в фармакопее КНР (1%).

12. Показано, что динамика содержания гениопикрина и растворимого сахара в подземных частях растений находится в противофазе.

13. С учетом накопления гениопикрина в подземных частях растений и коэффициента усушки предложено проводить сборы лекарственного сырья горечавки шероховатой (*G. scabra*) весной – в начале лета и в октябре, горечавки трехцветковой (*G. triflora*) – в конце второй декады июня и в конце второй декады октября.

14. Результаты работы показывают целесообразность выращивания горечавок в культуре.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕТАЦИИ:****Статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых журналах**

1. Сунь Янь, С.В. Нестерова. Дифференциация цветочной почки у *Gentiana scabra* Bunge // Вестник КрасГАУ. 2008. № 5. С. 224-227.
2. Сунь Янь, Н.А. Царенко. Влияние гиббереллина на прорастание семян у двух видов горечавок Дальнего Востока России // Вестник Северо-Восточного научного центра ДВО РАН. 2008. № 4. С. 83-85.

**Статьи, опубликованные в китайских журналах**

3. Сунь Янь, Ван Чэнь, Лю Минюань. Особенность цветения и плодоношения Гуань-горечавок // Бюллетень исследования растений. 2003. Т. 23 № 4. С. 453-457.
4. Сунь Янь, Ван Чэнь, Лю ин, Лю Минюань. Изучение гибридизации Гуань-горечавок // Вестник Харбинского педагогического университета. 2003. Т. 19. № 5. С. 99-101.
5. Сунь Янь, Ван Чэнь, Лю Минюань. Изучение о дифференциации почки *Gentiana manshurica* Kitag. // Вестник Харбинского педагогического университета. 2007. Т. 23. № 3. С. 100-103.

**Работа, опубликованная в материалах международной конференции**

6. Сунь Янь. К изучению особенности прорастания семян *Gentiana macrophylla* Pall. // Материалы Междунар. Научно-практической конференции «Биоморфологические исследование в современной ботанике». (Владивосток, 18-21 сентября 2007 г.). БСИ ДВО РАН, 2007. С. 498-500.

Подписано в печать 18.11.08 г. Формат 60х90/16. Уч.-изд. л. 0,9.

Тираж 100. Заказ № 105.

Отпечатано в типографии ФГУП «ТИНРО-Центр»

г. Владивосток, ул. Западная, 10

102